



# *In vitro* bioinsecticidal effect of plant extracts on *Bactericera cockerelli* and *Bemisia tabaci*

## Efecto bioinsecticida *in vitro* de extractos vegetales sobre *Bactericera cockerelli* y *Bemisia tabaci*

Joovely Belval<sup>1</sup>; Lorenzo Jarquín-Enríquez<sup>1</sup>; Anselmo de J. Cabrera-Hidalgo<sup>2</sup>; Norma Leticia Flores-Martínez<sup>1</sup>; Mayra Beatriz Gómez-Patiño<sup>3</sup>; Aarón Mendieta-Moctezuma<sup>4</sup>; Patricia Ibarra-Torres<sup>1,4\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Politécnica de Guanajuato. Avenida Universidad Sur, núm. 1001, Cortazar, Guanajuato, C. P. 38496, México.

<sup>2</sup>Tecnológico Nacional de México - Tlatlauquitepec. Carretera Federal Amozoc-Nautla km 122+600, Almoloni, Tlatlauquitepec, Puebla, C. P. 73907, México.

<sup>3</sup>Instituto Politécnico Nacional - CNMN. Unidad Profesional Adolfo López Mateos, col. Zacatenco, Ciudad de México, C. P. 07738, México.

<sup>4</sup>Instituto Politécnico Nacional - Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Ex-Hacienda San Juan Molino, Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla km 1.5, Tlaxcala, C. P. 90700, México.

\*Corresponding author: pibarra@upgto.edu.mx, tel. 461 441 4305.

### Abstract

**Introduction:** *Bactericera cockerelli* (Sulc) and *Bemisia tabaci* are phytophagous insects that cause significant losses in horticultural crops. The use of plant extracts represents a sustainable alternative for their control.

**Objective:** To evaluate the *in vitro* bioinsecticidal effect of polar extracts of *Heliopsis longipes*, *Azadirachta indica* and *Ricinus communis* at different concentrations on the mortality of nymphs of *B. cockerelli* and *B. tabaci*.

**Methodology:** Phytochemical analyses were performed on polar root extracts of *H. longipes* and seeds of *A. indica* and *R. communis*. Seven concentrations of each plant extract (0, 50, 60, 70, 80, 90, and 100 mg·mL<sup>-1</sup>) were evaluated under a complete factorial design. *In vitro* mortality of *B. tabaci* and *B. cockerelli* was determined from the median lethal concentration (LC<sub>50</sub>) by immersion.

**Results:** Extracts of *R. communis* and *H. longipes* showed the highest *in vitro* toxicity against nymphs of *B. tabaci* and *B. cockerelli*, respectively.

**Study limitations:** The bioassay was performed only with plant extracts; the insecticidal activity of its major compounds needs to be evaluated and possible mechanisms of action elucidated.

**Originality:** Few studies report the bioinsecticidal effect of two of the extracts evaluated in this research.

**Conclusions:** Polar extracts of *R. communis* and *H. longipes* could be an alternative to formulate bioinsecticide products for the control and management of *B. tabaci* and *B. cockerelli*.

**Keywords:** sucking insects, whitefly, potato psyllid, insecticide, *H. longipes*, *A. indica*, *R. communis*.

### Resumen

**Introducción:** *Bactericera cockerelli* (Sulc) y *Bemisia tabaci* son insectos fitófagos que ocasionan pérdidas significativas en cultivos hortícolas. El uso de extractos vegetales representa una alternativa sustentable para su control.

**Objetivo:** Evaluar el efecto bioinsecticida *in vitro* de extractos polares de *Heliopsis longipes*, *Azadirachta indica* y *Ricinus communis* a diferentes concentraciones sobre la mortalidad de ninfas de *B. cockerelli* y *B. tabaci*.

**Metodología:** Se realizaron análisis fitoquímicos a los extractos polares de raíz de *H. longipes* y semillas de *A. indica* y *R. communis*. Se evaluaron siete concentraciones de cada extracto vegetal (0, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 mg·mL<sup>-1</sup>) bajo un diseño factorial completo. La mortalidad *in vitro* de *B. tabaci* y *B. cockerelli* se determinó a partir de la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) mediante inmersión.

**Resultados:** Los extractos de *R. communis* y *H. longipes* mostraron la mayor toxicidad *in vitro* contra ninfas de *B. tabaci* y *B. cockerelli*, respectivamente.

**Limitaciones del estudio:** El bioensayo se realizó únicamente con extractos vegetales; se requiere evaluar la actividad insecticida de sus compuestos mayoritarios y dilucidar los posibles mecanismos de acción.

**Originalidad:** Existen pocos estudios que reportan el efecto bioinsecticida de dos de los extractos evaluados en esta investigación.

**Conclusiones:** Los extractos polares de *R. communis* y *H. longipes* podrían ser una alternativa para formular productos bioinsecticidas para el control y manejo de *B. tabaci* y *B. cockerelli*.

**Palabras clave:** insectos chupadores, mosca blanca, psílido de la papa, insecticida, *H. longipes*, *A. indica*, *R. communis*.

Please cite this article as follows (APA 7): Belval, J., Jarquín-Enríquez, L., Cabrera-Hidalgo, A. J., Flores-Martínez, N. L., Gómez-Patiño, M. B., Mendieta-Moctezuma, A., & Ibarra-Torres, P. (2025). *In vitro* bioinsecticidal effect of plant extracts on *Bactericera cockerelli* and *Bemisia tabaci*. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 17, e24040. <https://doi.org/10.5154/r.inagbi.2024.10.040>



Ingeniería Agrícola  
y Biosistemas

<https://revistas.chapingo.mx/inagbi/>

## Introduction

Sucking insects are considered agricultural pests due to their ability to transmit phytopathogens and cause direct and indirect damage to a wide variety of horticultural crops, with estimated losses of up to 40 % of annual production (Liu & Trumble, 2004). Among them, the jumping aphid (*Bactericera cockerelli* [Sulc], Hemiptera: Triozidae) and the whitefly (*Bemisia tabaci*) stand out, which mainly affect the production of species of the Solanaceae family, such as tomato (*Solanum lycopersicum*), potato (*Solanum tuberosum*), tobacco (*Nicotiana tabacum* L.), and chili (*Capsicum annuum* L.), crops of economic importance worldwide (Cárdenas et al., 2015).

*B. cockerelli* affects crops directly and indirectly. The former is by feeding on the phloem of host plants and inducing leaf curl, chlorosis, and growth retardation (Vereijssen et al., 2018). Indirectly, the insect acts as a primary vector of the A and B haplotypes of *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Lso), which reduce crop quality and yield (Olaniyan et al., 2020). On its side, *B. tabaci* causes damage through feeding and virus transmission. In the first case, nymphs excrete honeydew that promotes the development of sooty mold on leaves and fruits, causing yellowing, irregular ripening, and fruit deformation (Sani et al., 2020). As a vector, this species can transmit more than 200 viruses, including begomoviruses, responsible for losses in crops such as cassava, cotton, and tomato (Czosnek et al., 2002).

To a large extent, the management of these pests still depends on the use of synthetic insecticides; however, their indiscriminate and irrational application has led to significant adverse effects (Kodandaram et al., 2016), such as reduced biodiversity (Fonseca-Carreño & Fonseca-Carreño, 2024), environmental and health problems (Ahmed et al., 2000; Kaur et al., 2024; Stoytcheva, 2011), pest resistance to insecticides (Hawkins et al., 2019), a decrease in natural pest predators (Jacobsen et al., 2019), and the loss of pollinators (Desneux et al., 2007). This situation highlights the need to develop more sustainable control alternatives.

The use of plant extracts is a viable option, as they contain bioactive compounds such as flavonoids (5-10 %) and alkaloids with insecticidal, antifeedant, ovicidal, and oviposition-detering properties (Singh & Kaur, 2016). In this sense, extracts containing alkaloids have shown activity against agriculturally important insects through toxic and paralyzing effects. Among the species of interest is the *Heliopsis longipes* A. Gray Blake, endemic to Mexico (Acree et al., 1945), whose root contains alkalamide affinin, which is recognized for

## Introducción

Los insectos chupadores son considerados plagas de importancia agrícola debido a su capacidad para transmitir fitopatógenos y causar daños directos e indirectos en una amplia variedad de cultivos hortícolas, con pérdidas estimadas de hasta 40 % de la producción anual (Liu & Trumble, 2004). Entre ellos destacan el pulgón saltador (*Bactericera cockerelli* [Sulc], Hemiptera: Triozidae) y la mosca blanca (*Bemisia tabaci*), los cuales afectan, principalmente, la producción de especies de la familia Solanaceae como jitomate (*Solanum lycopersicum*), papa (*Solanum tuberosum*), tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) y chile (*Capsicum annuum* L.), cultivos de importancia económica a nivel mundial (Cárdenas et al., 2015).

*B. cockerelli* afecta a los cultivos de forma directa e indirecta. La primera al alimentarse del floema de las plantas hospedantes e inducir enrollamiento foliar, clorosis y retraso en el crecimiento (Vereijssen et al., 2018). De forma indirecta, el insecto actúa como vector primario de los haplotipos A y B de *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Lso), los cuales reducen la calidad y el rendimiento de los cultivos (Olaniyan et al., 2020). Por su parte, *B. tabaci* ocasiona daños por alimentación y por transmisión de virus. En el primer caso, las ninfas excretan melaza que favorece el desarrollo de fumagina en hojas y frutos, lo que provoca amarillamiento, maduración irregular y deformación de frutos (Sani et al., 2020). Como vector, esta especie puede transmitir más de 200 virus, incluidos los begomovirus, responsables de pérdidas en cultivos como yuca, algodón y tomate (Czosnek et al., 2002).

En gran medida, el manejo de estas plagas aún depende del uso de insecticidas sintéticos; sin embargo, su aplicación indiscriminada e irracional ha derivado en efectos adversos importantes (Kodandaram et al., 2016), como reducción de la biodiversidad (Fonseca-Carreño & Fonseca-Carreño, 2024), problemas ambientales y de salud (Ahmed et al., 2000; Kaur et al., 2024; Stoytcheva, 2011), resistencia de las plagas a los insecticidas (Hawkins et al., 2019), disminución de depredadores naturales de plagas (Jacobsen et al., 2019) y pérdida de polinizadores (Desneux et al., 2007). Esta situación resalta la necesidad de desarrollar alternativas de control más sostenibles.

El uso de extractos vegetales constituye una opción viable, pues contienen compuestos bioactivos como flavonoides (5-10 %) y alcaloides con propiedades insecticidas, antialimentarias, ovicidas y disuasorias de oviposición (Singh & Kaur, 2016). En este sentido, los extractos con presencia de alcaloides han mostrado actividad contra insectos de importancia agronómica mediante efectos tóxicos y paralizantes. Entre las especies

its insecticidal activity (Hernández-Morales et al., 2015; Molina-Torres et al., 2004; Yohan et al., 2023). Likewise, castor oil plant (*Ricinus communis* L.) is a perennial oilseed shrub belonging to the Euphorbiaceae family (Nour et al., 2023) that produces extracts rich in ricinin, an alkaloid with insecticidal effect (Sotelo-Leyva et al., 2020; Zahir et al., 2012). Finally, neem (*Azadirachta indica*) has been used as a bioinsecticide because it contains limonoid triterpenes (azadirachtin and nimbolide), which interfere with chemoreception and damage insect tissues, with reports of mortality above 90 % in various pests (Muhammad & Kashere, 2020; Navinraj et al., 2023).

In this context, this work aimed to evaluate the *in vitro* bioinsecticidal activity of ethanolic extracts of the root of *H. longipes*, and seeds of *A. indica* and *R. communis*, on nymphs of two sucking insects (*B. cockerelli* and *B. tabaci*), to contribute to the development of biorational insecticides.

## Materials and methods

### Biological material

*A. indica* seeds and *H. longipes* roots were purchased commercially in Hermosillo, Sonora, and Xichú, Guanajuato, Mexico, respectively. *R. communis* seeds were collected in Cortazar, Guanajuato. The three species were collected between March and August 2018. Taxonomic identification was confirmed by morphological characteristics. The plant material was subsequently dehydrated, homogenized, and stored until use.

### Obtaining polar plant extracts

The dried and pulverized plant material (100 g) was macerated in a 1:10 (w/v) ratio with 96 % ethanol for *H. longipes* and 99.8 % methanol for *A. indica* and *R. communis* for 15 days at room temperature. The liquid phase was filtered through Whatman No. 1 paper and the solvent was evaporated in a rotary evaporator (RE301A-O, Yamato Scientific Co., Japan) at 40 °C until 1 % of liquid phase was obtained. The crude extracts were stored in amber bottles at -20 °C for subsequent analysis and bioassays (Angulo-Escalante et al., 2004).

### Phytochemical analysis

The ethanolic extract of *H. longipes* roots was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) using a SCION 456-GC TQ system (Bruker Daltonics, USA) and a triple quadrupole mass detector (GC/MS Triple Quad). A DB-1 fused silica capillary column (60 m × 0.25 mm internal diameter) coated with polydimethylsiloxane (0.25 µm phase thickness) was

de interés se encuentra el chilcuague (*Heliopsis longipes* A. Gray Blake), endémico de México (Acree et al., 1945), cuya raíz contiene alcanida afinina, la cual es reconocida por su actividad insecticida (Hernández-Morales et al., 2015; Molina-Torres et al., 2004; Yohan et al., 2023). Asimismo, el ricino (*Ricinus communis* L.) es un arbusto oleaginoso perenne perteneciente a la familia Euphorbiaceae (Nour et al., 2023) y que produce extractos ricos en ricinina, un alcaloide con efecto insecticida (Sotelo-Leyva et al., 2020; Zahir et al., 2012). Finalmente, el neem (*Azadirachta indica*) se ha utilizado como bioinsecticida debido a que contiene triterpenos limonoides (azadiractina y nimbolide), los cuales interfieren con la quimiorrecepción y dañan los tejidos de los insectos, con reportes de mortalidad superiores al 90 % en diversas plagas (Muhammad & Kashere, 2020; Navinraj et al., 2023).

En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad bioinsecticida *in vitro* de extractos etanólicos de la raíz de *H. longipes*, y semillas de *A. indica* y *R. communis*, sobre ninfas de dos insectos chupadores (*B. cockerelli* y *B. tabaci*), con el fin de contribuir al desarrollo de insecticidas biorracionales.

## Materiales y métodos

### Material biológico

Las semillas de *A. indica* y la raíz de *H. longipes* se adquirieron de forma comercial en Hermosillo, Sonora, y Xichú, Guanajuato, México, respectivamente. Las semillas de *R. communis* se recolectaron en Cortazar, Guanajuato. La colecta de las tres especies se realizó entre marzo y agosto de 2018. La identificación taxonómica se corroboró mediante sus características morfológicas. Posteriormente, el material vegetal se deshidrató, homogeneizó y almacenó hasta su uso.

### Obtención de extractos vegetales polares

El material vegetal seco y pulverizado (100 g) se maceró en una proporción 1:10 (p/v) con etanol al 96 % para *H. longipes* y metanol al 99.8 % para *A. indica* y *R. communis* durante 15 días a temperatura ambiente. La fase líquida se filtró con papel Whatman No. 1 y el disolvente se evaporó en un rotaevaporador (RE301A-O, Yamato Scientific Co., Japón) a 40 °C hasta obtener 1 % de fase líquida. Los extractos crudos se almacenaron en frascos ámbar a -20 °C para su posterior análisis y bioensayos (Angulo-Escalante et al., 2004).

### Análisis fitoquímico

El extracto etanólico de raíz de *H. longipes* se analizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) con un sistema SCION 456-GC TQ (Bruker Daltonics, EUA) y detector

used. The oven was started at 50 °C for 5 min, with increments of 2.5 °C·min<sup>-1</sup> up to 250 °C. The carrier gas was helium (152 KPa, 35.7 cm·s<sup>-1</sup>). The injector temperature was maintained at 250 °C and the injected volume was 0.5 µL. The mass spectrometer operated at 70 eV, with an ionization chamber at 180 °C and a transfer line at 285 °C. Spectra were recorded in an m/z range of 50-400 (2.2 scan·s<sup>-1</sup>) (Stashenko et al., 1996). This analysis was performed to identify afinin (N-isobutyl-2E-6Z-8E dicatrienamida), which is the most abundant alkamide and to which insecticidal activity is attributed (Hernández-Morales et al., 2015). Compound identification was performed by comparison with the National Institute of Standards and Technology (NIST) database.

The methanolic extract of *A. indica* seeds was analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC) (1260 Infinity II, Agilent Technologies, USA) to determine the azadirachtin content. Lyophilized samples were dissolved in HPLC-grade ethanol, homogenized, sonicated, and centrifuged to obtain the supernatant. An Eclipse C18 column (250 × 4.6 mm, 2.5 µm) with a mobile phase of acetonitrile:water (40:60) was used at a flow rate of 1 mL·min<sup>-1</sup> at 30 °C and a diode array detector (DAD). The calibration curve was constructed with 10 µL of the 95 % pure azadirachtin standard solution (Sigma-Aldrich®, USA) at concentrations of 0.5, 0.25, 0.125, and 0.0625 mg·mL<sup>-1</sup>. The azadirachtin content was determined at 214 nm (Marciano-de Paula et al., 2016).

The phenolic and flavonoid content was determined in all extracts by UV-Vis spectrophotometry. Total phenolics were quantified by the Folin-Ciocalteu colorimetric method (Ainsworth & Gillespie, 2007). One hundred microliters of the extract was mixed with 200 µL of the Folin-Ciocalteu reagent (10 %) and, after 5 min of incubation, 800 µL of Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.7 M) was added. The mixture was incubated at room temperature for 2 h. 200 µL of the mixture was transferred to a 96-well microplate, and the absorbance at 765 nm was measured in a microplate reader (Multiskan go, Thermo Fisher Scientific, USA). The standard curve was prepared in the same manner, but with gallic acid in the range of 0 to 600 µg·mL<sup>-1</sup>. The results were expressed as milligrams of gallic acid equivalents per gram of dry tissue (mg<sub>GAE</sub>·g<sup>-1</sup> DW).

Total flavonoids were quantified using the colorimetric method with AlCl<sub>3</sub> (Stankovic, 2011), with some modifications. 0.5 mL of the extract was mixed with 0.1 mL of an AlCl<sub>3</sub> solution (10 %), 0.1 mL of CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>K (1.0 M), 1.5 mL of methanol (80 %), and 2.8 mL of distilled water. The blank was prepared with water instead of the sample and the AlCl<sub>3</sub> solution. The mixture was incubated at room temperature for 30 min.

de masas de triple cuadrupolo (GC/MS Triple Quad). Se utilizó una columna capilar de sílice fusionada DB-1 (60 m × 0.25 mm diámetro interno) recubierta con polidimetilsiloxano (0.25 µm espesor de fase). El horno inició a 50 °C por 5 min, con incrementos de 2.5 °C·min<sup>-1</sup> hasta 250 °C. El gas portador fue helio (152 KPa, 35.7 cm·s<sup>-1</sup>). La temperatura del inyector se mantuvo a 250 °C y el volumen inyectado fue de 0.5 µL. El espectrómetro de masas operó a 70 eV, con cámara de ionización a 180 °C y línea de transferencia a 285 °C. Los espectros se registraron en un rango m/z de 50-400 (2.2 scan·s<sup>-1</sup>) (Stashenko et al., 1996). Este análisis se realizó con la finalidad de identificar afinina (N-isobutil-2E-6Z-8E dicatrienamida), que es la alcamida más abundante y a la cual se le atribuye actividad insecticida (Hernández-Morales et al., 2015). La identificación de compuestos se realizó mediante comparación con la base de datos del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST, por sus siglas en inglés).

El extracto metanólico de semillas de *A. indica* se analizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) (1260 Infinity II, Agilent Technologies, EUA) para determinar el contenido de azadiractina. Las muestras liofilizadas se disolvieron en etanol grado HPLC, se homogeneizaron, se sonicaron y se centrifugaron hasta obtener el sobrenadante. Se empleó una columna Eclipse C18 (250 × 4.6 mm, 2.5 µm) con fase móvil de acetonitrilo:agua (40:60) a un flujo de 1 mL·min<sup>-1</sup> a 30 °C y un detector de arreglo de diodos (DAD). La curva de calibración se construyó con 10 µL de la solución estándar de azadiractina con pureza de 95 % (Sigma-Aldrich®, EUA) en concentraciones de 0.5, 0.25, 0.125 y 0.0625 mg·mL<sup>-1</sup>. El contenido de azadiractina se determinó a 214 nm (Marciano-de Paula et al., 2016).

El contenido de fenoles y flavonoides se determinó en todos los extractos mediante espectrofotometría UV-Vis. Los fenoles totales se cuantificaron por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Ainsworth & Gillespie, 2007). Se mezclaron 100 µL del extracto con 200 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu (10 %) y, después de 5 min de incubación, se añadieron 800 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.7 M). La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 2 h. Se transfirieron 200 µL de la mezcla a una microplaca de 96 pocillos y se midió la absorbancia a 765 nm en un lector de microplacas (Multiskan go, Thermo Fisher Scientific, EUA). La curva estándar se preparó de la misma manera, pero con ácido gálico en el rango de 0 a 600 µg·mL<sup>-1</sup>. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de tejido seco (mg<sub>EAG</sub>·g<sup>-1</sup> PS).

Los flavonoides totales se cuantificaron mediante el método colorimétrico con AlCl<sub>3</sub> (Stankovic, 2011), con algunas modificaciones. Se mezclaron 0.5 mL del extracto

Absorbance was measured at 415 nm in a microplate reader (Multiskan go, Thermo Fisher Scientific, USA). The standard curve was prepared with quercetin in the range of 0 to 200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , and the results were expressed as milligrams of quercetin equivalents per gram of dry tissue ( $\text{mg}_{\text{QE}}\cdot\text{g}^{-1}\text{ DW}$ ).

### Determination of insecticidal activity

#### Insects

Nymphs and adults of *B. cockerelli* and *B. tabaci* were collected in green pepper greenhouses in Silao, Guanajuato (20° 56' 37" N and 101° 25' 36" W), with a semi-dry climate and temperatures above 24 °C. The insects were maintained on potato plants cv. Fiana inside entomological cages (60 × 60 cm) at 25 ± 3 °C and artificial light (18 W LED Plant Growth).

#### Bioassays

Seven concentrations of each crude plant extract (0, 50, 60, 70, 80, 90, and 100  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) dissolved in distilled water were evaluated. Sections of potato leaves with fourth-stage nymphs (weight between 5 and 7 mg) were taken. The nymphs were treated by immersion in each concentration of each extract evaluated for 10 s (Cerna et al., 2013). Subsequently, they were left to drain to remove excess product from the leaf and introduced into Petri dishes (100 × 15 mm), where mortality was recorded for 24 h. Each treatment was applied by triplicate, and the dishes were maintained at 25 ± 2 °C. To maintain leaf hydration, a piece of moist tissue was covered with blue cloth to facilitate visualization of emerged nymphs and adults (Figure 1).

Response variables included the number of nymphs per  $\text{cm}^2$  before application, as well as the number of emerged adults, both alive and dead, in each observation.

con 0.1 mL de una solución de  $\text{AlCl}_3$  (10 %), 0.1 mL de  $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$  (1.0 M), 1.5 mL de metanol (80 %) y 2.8 mL de agua destilada. El blanco se preparó con agua en lugar de la muestra y la solución de  $\text{AlCl}_3$ . La mezcla se incubó a temperatura ambiente durante 30 min. La absorbancia se midió a 415 nm en un lector de microplacas (Multiskan go, Thermo Fisher Scientific, EUA). La curva estándar se preparó con quercetina en el rango de 0 a 200  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  y los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de quercetina por gramo de tejido seco ( $\text{mg}_{\text{EQ}}\cdot\text{g}^{-1}\text{ PS}$ ).

### Determinación de la actividad insecticida

#### Insectos

Se colectaron ninfas y adultos de *B. cockerelli* y *B. tabaci* en invernaderos de pimiento verde en Silao, Guanajuato (20° 56' 37" N y 101° 25' 36" O), con clima semiseco y temperaturas superiores a 24 °C. Los insectos se mantuvieron en plantas de papa cv. Fiana dentro de jaulas entomológicas (60 × 60 cm) a 25 ± 3 °C y luz artificial (18 W LED Plant Growth).

#### Bioensayos

Se evaluaron siete concentraciones de cada extracto vegetal crudo (0, 50, 60, 70, 80, 90 y 100  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), disueltas en agua destilada. Se tomaron secciones de hojas de papa con presencia de ninfas en el cuarto estadio (peso entre 5 y 7 mg). Las ninfas se trataron por inmersión en cada concentración de cada extracto evaluado durante 10 s (Cerna et al., 2013). Posteriormente, se dejaron escurrir para eliminar el exceso de producto en la hoja y se introdujeron en cajas de Petri (100 × 15 mm), donde se registró la mortalidad durante 24 h. Cada tratamiento se aplicó por triplicado y las cajas se mantuvieron a 25 ± 2 °C. Para conservar la hidratación de las hojas, se colocó un pedazo de sanita húmeda cubierto con tela azul para facilitar la visualización de ninfas y adultos emergidos (Figura 1).



**Figure 1. Mounting of potato leaves infested with nymphs of *Bactericera cockerelli* and *Bemisia tabaci*.**

**Figura 1. Montaje de las hojas de papa infestadas con ninfas de *Bactericera cockerelli* y *Bemisia tabaci*.**

## Statistical analysis

A full factorial design with three replicates was established, in which three extracts with seven concentrations (0, 50, 60, 70, 80, 90, and 100 mg·mL<sup>-1</sup>) were evaluated. Mortality data were subjected to analysis of variance and Tukey's means comparison test ( $\alpha = 0.05$ ) in MINITAB version 18. Likewise, the average lethal concentration (LC<sub>50</sub>) was estimated using Probit analysis in the XLSTAT program (Addinsoft, 2018), with corrected mortality or natural mortality of insects not associated with the dose effect.

## Results and discussion

### Phytochemical analysis of the extracts

When comparing the mass spectrum of the ethanolic extract of *H. longipes* root, a 95 % similarity was observed with the affinin molecule from the NIST database. The mass spectrum (Figure 2) includes the fragments resulting from the ionization of the molecule, characterized by the base peaks of m/z 81 (100 %), 141 (60 %), and 221 (5 %). Affinin, the major alkaloid in the ethanolic extract of *H. longipes* root, had a retention time of 18.993 min. These results are consistent with those reported in the literature (Vázquez-Martínez & Molina-Torres, 2024).

Regarding the concentration of azadirachtin in the methanolic extract of *A. indica* seeds, the retention times of the standard and the extract were 6.139 and 6.130 min, respectively, and the maximum absorbance

Las variables de respuesta incluyeron el número de ninfas por cm<sup>2</sup> previo a la aplicación, así como el número de adultos emergidos vivos y muertos en cada observación.

### Análisis estadístico

Se estableció un diseño factorial completo con tres repeticiones, donde se evaluaron tres extractos con siete concentraciones (0, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 mg·mL<sup>-1</sup>). Los datos de mortalidad se sometieron a un análisis de varianza y prueba de comparación de medias de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) en el programa estadístico MINITAB versión 18. Asimismo, se estimó la concentración letal media (CL<sub>50</sub>) mediante el análisis de Probit en el programa XLSTAT (Addinsoft, 2018), con mortalidad corregida o mortalidad natural de los insectos no asociada con el efecto de la dosis.

## Resultados y discusión

### Análisis fitoquímico de los extractos

Al comparar el espectro de masas del extracto etanólico de raíz de *H. longipes*, se observó una similitud de 95 % con la molécula de afinina de la base de datos del NIST. El espectro de masas (Figura 2) incluye los fragmentos resultantes de la ionización de las moléculas, caracterizada por los picos base de m/z 81 (100 %), 141 (60 %) y 221 (5 %). La afinina, alcaloide mayoritaria en el extracto etanólico de raíz de *H. longipes*, tuvo un tiempo de retención de 18.993 min. Estos resultados concuerdan con los reportados en la literatura (Vázquez-Martínez & Molina-Torres, 2024).

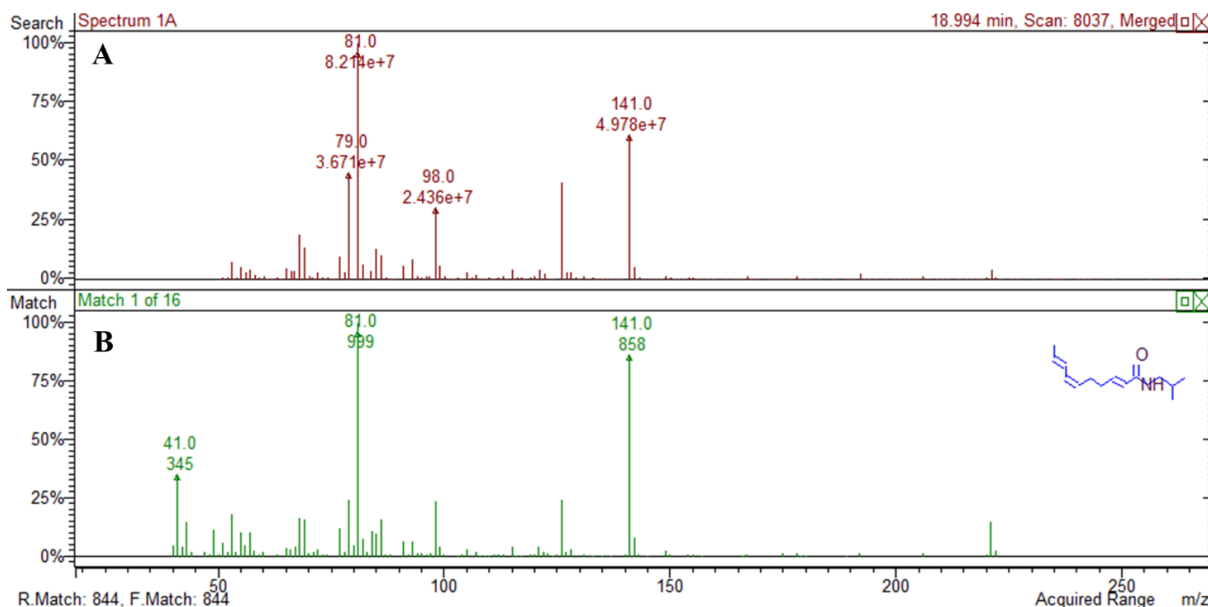


Figure 2. Chromatogram of the sample (A) and mass spectrum (B) of the polar extract of *Heliopsis longipes* seeds analyzed by GC-MS. Figura 2. Cromatograma de la muestra (A) y espectro de masas (B) del extracto polar de semillas de *Heliopsis longipes* analizado por GC-MS.

wavelength was 214 nm in both cases, which confirmed the identity of the compound. After interpolation of the area under the curve of the identified compound in the calibration curve, the concentration of azadirachtin in the methanolic extract of *A. indica* seeds was determined to be 1770.16 ppm. This value is within the concentration range reported in the polar extract of *A. indica* seeds (47.6 to 4669.7 ppm) (Angulo-Escalante et al., 2004; Song et al., 2018). The variations observed in different studies are attributed to factors such as agroclimatic conditions, genetics, fruit development stage, extraction methods, and solvents (Ramos et al., 2004).

The *R. communis* and *H. longipes* extracts showed higher total phenolic content than the *A. indica* extract. The *H. longipes* extract, on the other hand, exhibited a high total flavonoid content, four times higher than that found in the *R. communis* and *A. indica* extracts (Table 1). Wafa et al. (2014) reported 623.7 mg<sub>GAE</sub>·g<sup>-1</sup> of total phenolics in a polar extract of *R. communis*, while Parola-Contreras et al. (2020) found 98.1 mg<sub>GAE</sub>·g<sup>-1</sup> of phenols and 0.24 mg rutin equivalents (RE) per gram of total flavonoids in a polar extract of *H. longipes* leaf. For polar extracts of *A. indica* seeds, Saha-Tchinda et al. (2021) obtained a total phenol content of 27.02 mg<sub>GAE</sub>·g<sup>-1</sup>, almost six times lower than that obtained in the present work.

Regarding flavonoids, Kumar et al. (2018) reported 119.05 mg<sub>QE</sub>·g<sup>-1</sup> in polar extracts of *A. indica* leaves, a value almost 30 times higher than that observed in seeds. The variations observed in the concentration of phenolic compounds and flavonoids can be attributed to the plant organ analyzed (seeds, root, leaf), type of solvent in the extraction, maturation stage of the plant species, as well as environmental and cultivation conditions (Pratyusha, 2022).

#### Insecticidal effect of the extracts against *B. tabaci*

Statistical analysis showed significant differences ( $p < 0.05$ ) between the plant extracts on the percentage of *B. tabaci* mortality after 24 h of exposure. Overall,

En cuanto a la concentración de azadiractina en el extracto metanólico de semillas de *A. indica*, los tiempos de retención del estándar y del extracto fueron de 6.139 y 6.130 min, respectivamente, y la longitud de onda de máxima absorbancia fue de 214 nm en ambos casos, lo que confirmó la identidad del compuesto. Después de interpolar el área bajo la curva del compuesto identificado en la curva de calibración, se determinó que la concentración de azadiractina en el extracto metanólico de semillas de *A. indica* era de 1770.16 ppm. Este valor se encuentra dentro del rango de concentración reportado en extracto polar de semillas de *A. indica* (de 47.6 a 4669.7 ppm) (Angulo-Escalante et al., 2004; Song et al., 2018). Las variaciones observadas en diferentes estudios se atribuyen a factores como condiciones agroclimáticas, genética, etapa de desarrollo del fruto, métodos y solventes de extracción (Ramos et al., 2004).

Los extractos de *R. communis* y *H. longipes* presentaron un mayor contenido de fenoles totales con respecto al extracto de *A. indica*. Por su parte, el extracto de *H. longipes* exhibió un alto contenido de flavonoides totales, el cual fue cuatro veces superior al encontrado en los extractos de *R. communis* y *A. indica* (Cuadro 1). Wafa et al. (2014) reportaron 623.7 mg<sub>EAG</sub>·g<sup>-1</sup> de fenoles totales en un extracto polar de *R. communis*, mientras que Parola-Contreras et al. (2020) encontraron 98.1 mg<sub>EAG</sub>·g<sup>-1</sup> de fenoles y 0.24 mg equivalentes de rutina (ER) por gramo de flavonoides totales en un extracto polar de hoja de *H. longipes*. Para extractos polares de semilla de *A. indica*, Saha-Tchinda et al. (2021) obtuvieron un contenido de fenoles totales de 27.02 mg<sub>EAG</sub>·g<sup>-1</sup>, casi seis veces menor que el obtenido en el presente trabajo.

Respecto a los flavonoides, Kumar et al. (2018) reportaron 119.05 mg<sub>EQ</sub>·g<sup>-1</sup> en extractos polares de hojas de *A. indica*, valor casi 30 veces mayor que el observado en semillas. Las variaciones observadas en la concentración de compuestos fenólicos y flavonoides se pueden atribuir al órgano vegetal analizado (semillas, raíz, hoja), tipo de disolvente en la extracción, etapa de maduración de la especie vegetal, así como condiciones ambientales y de cultivo (Pratyusha, 2022).

**Table 1. Total phenol and flavonoid content in each plant extract.**

**Cuadro 1. Contenido de fenoles totales y flavonoides en cada extracto vegetal.**

Plant extract / Extracto vegetal	Total phenols (mg <sub>GAE</sub> ·g <sup>-1</sup> DW) / Fenoles totales (mg <sub>EAG</sub> ·g <sup>-1</sup> PS)	Total flavonoids (mg <sub>QE</sub> ·g <sup>-1</sup> DW) / Flavonoides totales (mg <sub>EQ</sub> ·g <sup>-1</sup> PS)
<i>Heliopsis longipes</i>	171.18 ± 0.12 b	20.07 ± 0.14 b
<i>Azadirachta indica</i>	162.49 ± 0.09 a	4.32 ± 0.44 a
<i>Ricinus communis</i>	170.84 ± 0.12 b	5.14 ± 0.51 a

GAE: gallic acid equivalent; QE: quercetin equivalent; DW: dry weight. Different letters within each column indicate significant differences (Tukey,  $p < 0.05$ ).

EAG: equivalente de ácido gálico; EQ: equivalente de quercetina; PS: peso seco. Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0.05$ ).

adult and nymph mortality was primarily determined by the concentration of the extracts tested. *B. tabaci* mortality ranged from 26.3 to 91.7 % with the ethanolic extract of *H. longipes*, while the control had no effect (Figure 3). Treatments with 90 and 100 mg·mL<sup>-1</sup> showed mortality rates greater than 80 %, with no statistical differences between them. No reports were found on the insecticidal effect of *H. longipes* extracts against *B. tabaci*. However, the bioactivity of the ethanolic root extract of *H. longipes* against *Aedes aegypti* has been documented, with an LC<sub>50</sub> of 0.00407 mg·mL<sup>-1</sup> at 48 h after application (Hernández-Morales et al., 2015).

The methanolic extract of *A. indica* seeds produced 6.7–84.1 % mortality against *B. tabaci*, while the control (methanol only) had no effect (Figure 4). Concentrations

### Efecto insecticida de los extractos contra *B. tabaci*

El análisis estadístico mostró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) de los extractos vegetales sobre el porcentaje de mortalidad de *B. tabaci* después de 24 h de exposición. En general, la mortalidad de adultos y ninfas estuvo determinada principalmente por la concentración de los extractos evaluados. La mortalidad de *B. tabaci* varió de 26.3 a 91.7 % con el extracto etanólico de *H. longipes*, mientras que el testigo no tuvo efecto (Figura 3). Los tratamientos de 90 y 100 mg·mL<sup>-1</sup> mostraron una mortalidad superior al 80 %, sin diferencias estadísticas entre ellos. No se encontraron reportes sobre el efecto insecticida de extractos de *H. longipes* contra *B. tabaci*. No obstante, se ha documentado la bioactividad del extracto etanólico de raíz de *H. longipes* sobre *Aedes*

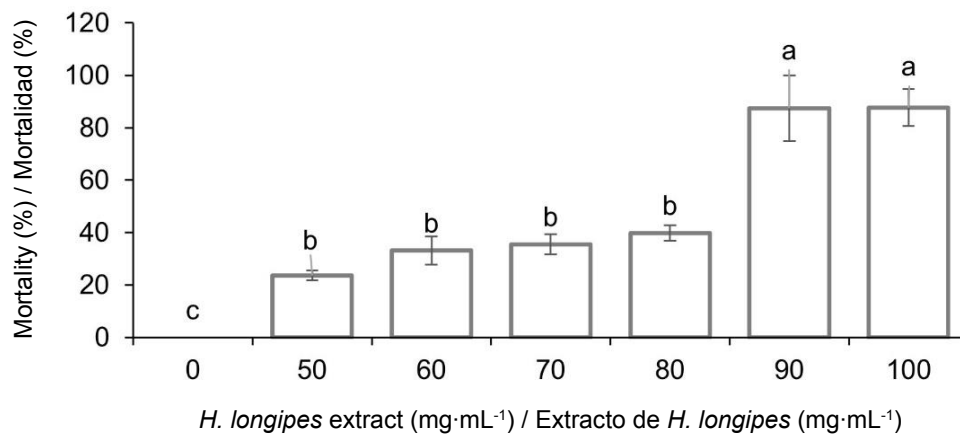


Figure 3. Mortality rate of *Bemisia tabaci* after 24 h of application of different concentrations of the ethanolic extract of *Heliopsis longipes*. Different letters between concentrations indicate significant differences (Tukey,  $p < 0.05$ ).

Figura 3. Porcentaje de mortalidad de *Bemisia tabaci* después de 24 h de la aplicación de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Heliopsis longipes*. Letras diferentes entre concentraciones indican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0.05$ ).

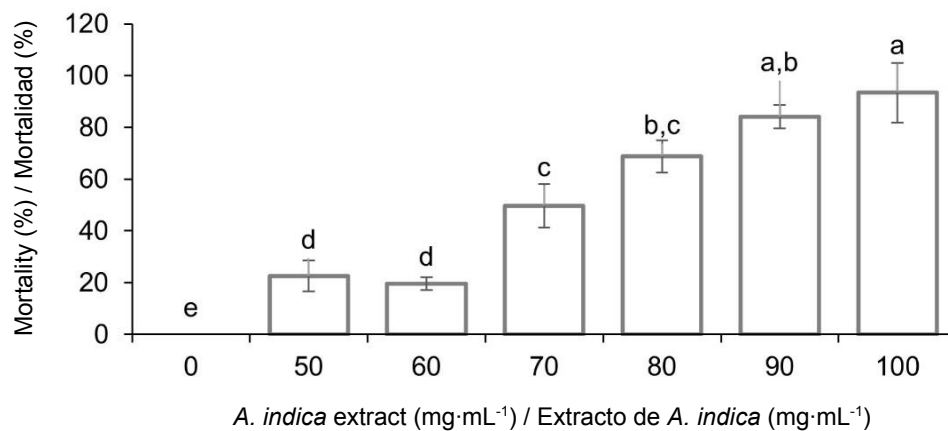


Figure 4. Mortality rate of *Bemisia tabaci* after 24 h of application of different concentrations of the methanolic extract of *Azadirachta indica*. Different letters between concentrations indicate significant differences. (Tukey,  $p < 0.05$ ).

Figura 4. Porcentaje de mortalidad de *Bemisia tabaci* después de 24 h de la aplicación de diferentes concentraciones del extracto metanólico de *Azadirachta indica*. Letras diferentes entre concentraciones indican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0.05$ ).

of 80 and 90 mg·mL<sup>-1</sup> showed mortality rates greater than 60 %, with the highest mortality rate (84.1 %) being achieved by the 100 mg·mL<sup>-1</sup> treatment. These results are consistent with other reports, where mortalities between 50 and 99 % were observed in *B. tabaci* at concentrations of 10 to 41 mg·mL<sup>-1</sup> of *A. indica* extracts (Cruz-Estrada et al., 2013; Diabaté et al., 2020; Lopes-Baldin et al., 2007). Likewise, Kumar et al. (2018) obtained mortalities of 46.6 and 23.4 % under laboratory and field conditions, respectively, against *B. tabaci* when applying 50 mg·mL<sup>-1</sup> of *A. indica* seed extract. Dai et al. (2001) suggest that azadirachtin, the main limonoid with biological activity in *A. indica*, is distributed in different organs of the plant, but the seeds contain the highest concentration.

*B. tabaci* mortality was greater than 70 % from 40 mg·mL<sup>-1</sup> of the methanolic extract of *R. communis* (Figure 5). *R. communis* oil at concentrations of 0.0054 to 10 mg·mL<sup>-1</sup> has shown insecticidal activity against *B. tabaci*, with mortality ranging from 50 to 77 % (Ali et al., 2020; Khalil et al., 2010). Likewise, *R. communis* seed extracts have shown larvicidal effects by inhibiting the development of larvae, pupae, and adults, which is attributed to the presence of trypsin inhibitor molecules (Mandal, 2010). According to the results, the *R. communis* extract presented the highest toxicity on *B. tabaci*, followed by *H. longipes* and *A. indica*. *R. communis* has been reported to attract or repel insects depending on the growth stage, which has been associated with the fluctuation in the emission of volatile compounds (Liu et al., 2022).

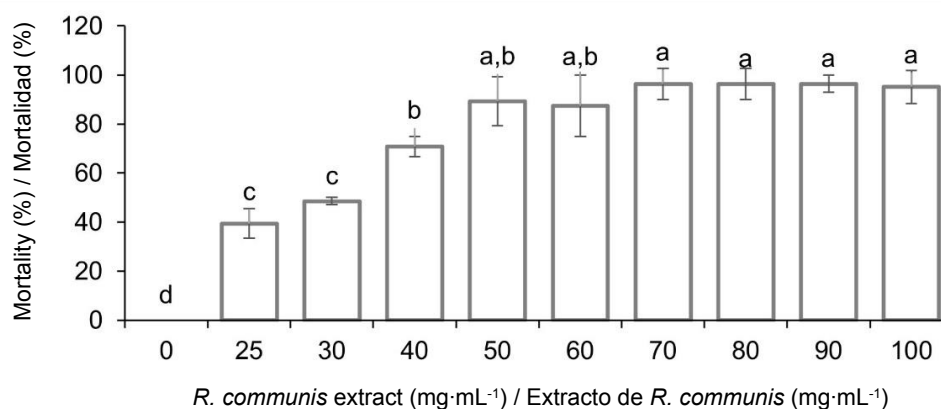
#### Insecticidal effect of the extracts against *B. cockerelli*

Statistical analysis showed significant differences ( $p < 0.05$ ) between the concentrations of the plant extracts on *B. cockerelli* mortality at 48 h of exposure.

*aegypti*, con una CL<sub>50</sub> de 0.00407 mg·mL<sup>-1</sup> a las 48 h de aplicación (Hernández-Morales et al., 2015).

El extracto metanólico de semillas de *A. indica* produjo una mortalidad de 6.7 a 84.1 % contra *B. tabaci*, mientras que el testigo (solo metanol) no tuvo efecto (Figura 4). Las concentraciones de 80 y 90 mg·mL<sup>-1</sup> presentaron una mortalidad superior al 60 %, y el tratamiento con 100 mg·mL<sup>-1</sup> alcanzó el valor más alto (84.1 %). Estos resultados son consistentes con otros reportes, donde se observaron mortalidades entre 50 y 99 % en *B. tabaci* a concentraciones de 10 a 41 mg·mL<sup>-1</sup> de extractos de *A. indica* (Cruz-Estrada et al., 2013; Diabaté et al., 2020; Lopes-Baldin et al., 2007). Asimismo, Kumar et al. (2018) obtuvieron mortalidades de 46.6 y 23.4 % en condiciones de laboratorio y campo, respectivamente, contra *B. tabaci* al aplicar 50 mg·mL<sup>-1</sup> de extracto de semilla de *A. indica*. Dai et al. (2001) sugieren que la azadiractina, principal limonoide con actividad biológica en *A. indica*, se encuentra distribuida en diferentes órganos de la planta, pero las semillas contienen la mayor concentración.

La mortalidad de *B. tabaci* fue superior al 70 % a partir de 40 mg·mL<sup>-1</sup> del extracto metanólico de *R. communis* (Figura 5). El aceite de *R. communis* a concentraciones de 0.0054 a 10 mg·mL<sup>-1</sup> ha mostrado actividad insecticida contra *B. tabaci*, con mortalidad de 50 a 77 % (Ali et al., 2020; Khalil et al., 2010). Asimismo, extractos de semillas de *R. communis* han mostrado efectos larvicidas, al inhibir el desarrollo de larvas, pupas y adultos, lo cual se atribuye a la presencia de moléculas inhibitoras de tripsina (Mandal, 2010). De acuerdo con los resultados, el extracto de *R. communis* presentó la mayor toxicidad sobre *B. tabaci*, seguido por *H. longipes* y *A. indica*. Se ha reportado que *R. communis* atrae o repele insectos dependiendo de la etapa de crecimiento, lo cual se ha asociado a la fluctuación de la emisión de compuestos volátiles (Liu et al., 2022).



**Figure 5.** Mortality rate of *Bemisia tabaci* after 24 h of application of different concentrations of the methanolic extract of *Ricinus communis*. Different letters between concentrations indicate significant differences (Tukey,  $p < 0.05$ ).

**Figura 5.** Porcentaje de mortalidad de *Bemisia tabaci* después de 24 h de la aplicación de diferentes concentraciones del extracto metanólico de *Ricinus communis*. Letras diferentes entre concentraciones indican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0.05$ ).

All extracts caused insect mortality greater than 80 % at the concentration of 80 mg·mL<sup>-1</sup>.

Mortality of *B. cockerelli* ranged from 44.4 to 100 % with the *H. longipes* extract, while the control had no effect (Figure 6). Beltrán-Beache et al. (2015) reported a mortality rate greater than 95 % with 1.5 mg·mL<sup>-1</sup> of affinin obtained from an ethanolic extract of *H. longipes* root.

The *A. indica* extract showed a lower lethal effect than that of *H. longipes* against *B. cockerelli*, with 77.8 % mortality at 80 mg·mL<sup>-1</sup> (Figure 7). Barrios-Díaz et al. (2016) obtained similar results when evaluating commercial bioproducts made with plant extracts

### Efecto insecticida de los extractos contra *B. cockerelli*

El análisis estadístico evidenció diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las concentraciones de los extractos vegetales sobre la mortalidad de *B. cockerelli* a las 48 h de exposición. Todos los extractos provocaron una mortalidad superior al 80 % del insecto con la concentración de 80 mg·mL<sup>-1</sup>.

La mortalidad de *B. cockerelli* varió de 44.4 a 100 % con el extracto de *H. longipes*, mientras que el testigo no tuvo efecto (Figura 6). Beltrán-Beache et al. (2015) reportaron una mortalidad superior al 95 % con 1.5 mg·mL<sup>-1</sup> de afinina obtenida a partir de un extracto etanólico de raíz de *H. longipes*.

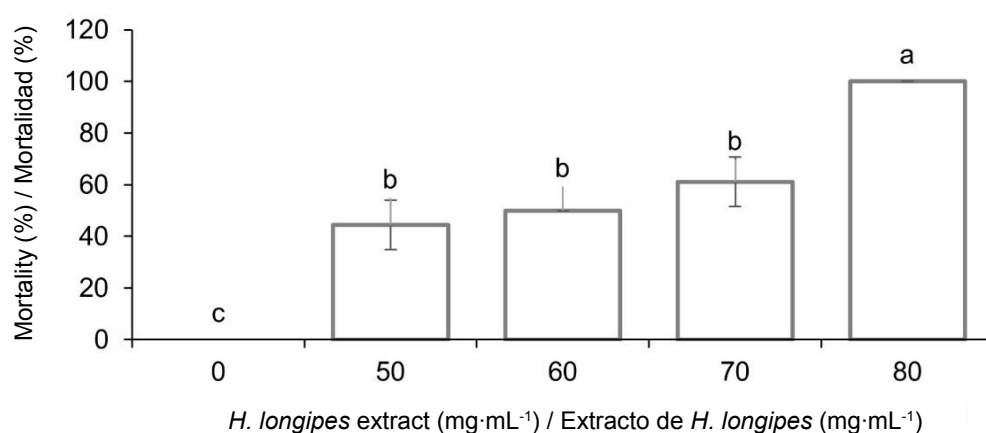


Figure 6. Percentage mortality of *Bactericera cockerelli* after 48 h of application of different concentrations of the ethanolic extract of *Heliopsis longipes*. Different letters between concentrations indicate significant differences (Tukey,  $p < 0.05$ ).

Figura 6. Porcentaje de mortalidad de *Bactericera cockerelli* después de 48 h de la aplicación de diferentes concentraciones del extracto etanólico de *Heliopsis longipes*. Letras diferentes entre concentraciones indican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0.05$ ).

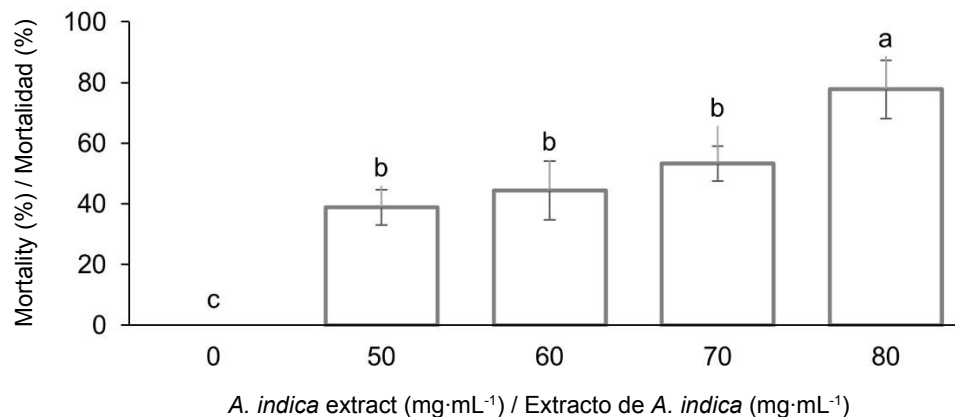


Figure 7. Percentage mortality of *Bactericera cockerelli* after 48 h of application of different concentrations of the methanolic extract of *Azadirachta indica*. Different letters between concentrations indicate significant differences (Tukey,  $p < 0.05$ ).

Figura 7. Porcentaje de mortalidad de *Bactericera cockerelli* después de 48 h de la aplicación de diferentes concentraciones del extracto metanólico de *Azadirachta indica*. Letras diferentes entre concentraciones indican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0.05$ ).

of garlic, ash broth and *A. indica* against *B. cockerelli* nymphs and adults. Likewise, Granados-Echegoyen et al. (2015) reported an 87 % higher mortality rate with 200 mg·mL<sup>-1</sup> of the ethanolic extract of *A. indica* on fifth instar nymphs of *B. cockerelli*. In contrast, Flores-Dávila et al. (2011) achieved 100 % lethality on *B. cockerelli* nymphs with 2.5 mg·mL<sup>-1</sup> of lipid extract from *A. indica* seeds.

*R. communis* extract exhibited a 100 % insecticidal effect on *B. cockerelli* nymphs at 80 mg·mL<sup>-1</sup> (Figure 8). Mortality increased significantly as the extract concentration increased. Some studies suggest that the compounds ricin and ricinolein present in *R. communis* have insecticidal activity by altering growth processes, ecdysis, and feeding behavior in insects (Bordin et al., 2023). This effect has been associated with the inhibition of essential enzymatic pathways, such as the action of the cytochrome P-450-dependent hydroxylase enzyme, which is involved in the regulation of the insect molting process (Singh & Kaur, 2016).

#### Mean lethal concentration (LC<sub>50</sub>) of plant extracts against nymphs of *B. tabaci* and *B. cockerelli*

According to the results, the methanolic extract of *R. communis* seeds showed the greatest insecticidal effect against *B. tabaci* nymphs, with an LC<sub>50</sub> of 28.3 mg·mL<sup>-1</sup> (Table 2). Ali et al. (2020) reported an LC<sub>50</sub> of 2.26 mg·mL<sup>-1</sup> when using a lipid extract, which explains the observed difference. Likewise, mortality rates close to 100% have been recorded when applying extracts of different *R. communis* organs to mosquito larvae such as *C. quinquefasciatus*, *A. albopictus*, *A. stephens*, and *A. gambiae* (Abomughaid et al., 2024). This insecticidal activity has been attributed mainly

El extracto de *A. indica* mostró un efecto letal menor que el de *H. longipes* contra *B. cockerelli*, con un 77.8 % de mortalidad a 80 mg·mL<sup>-1</sup> (Figura 7). Barrios-Díaz et al. (2016) obtuvieron resultados similares al evaluar bioproductos comerciales elaborados con extractos vegetales de ajo, caldo de ceniza y *A. indica* contra ninfas y adultos de *B. cockerelli*. Asimismo, Granados-Echegoyen et al. (2015) reportaron una mortalidad mayor de 87 % con 200 mg·mL<sup>-1</sup> del extracto etanólico de *A. indica* sobre ninfas del quinto instar de *B. cockerelli*. En contraste, Flores-Dávila et al. (2011) alcanzaron una letalidad del 100 % sobre ninfas de *B. cockerelli* con 2.5 mg·mL<sup>-1</sup> de extracto lipídico de semilla de *A. indica*.

El extracto de *R. communis* exhibió un efecto insecticida del 100 % sobre ninfas de *B. cockerelli* con 80 mg·mL<sup>-1</sup> (Figura 8). La mortalidad incrementó significativamente conforme aumentó la concentración del extracto. Algunos estudios sugieren que los compuestos ricina y ricinoleína presentes en *R. communis* poseen actividad insecticida al alterar procesos de crecimiento, ecdisis y comportamiento alimentario en los insectos (Bordin et al., 2023). Este efecto se ha asociado con la inhibición de rutas enzimáticas esenciales, como la acción de la enzima hidroxilasa dependiente del citocromo P-450, la cual está implicada en la regulación del proceso de muda de los insectos (Singh & Kaur, 2016).

#### Concentración letal media (CL<sub>50</sub>) de los extractos vegetales contra ninfas de *B. tabaci* y *B. cockerelli*

De acuerdo con los resultados, el extracto metanólico de semillas de *R. communis* mostró el mayor efecto insecticida contra ninfas de *B. tabaci*, con una CL<sub>50</sub> de

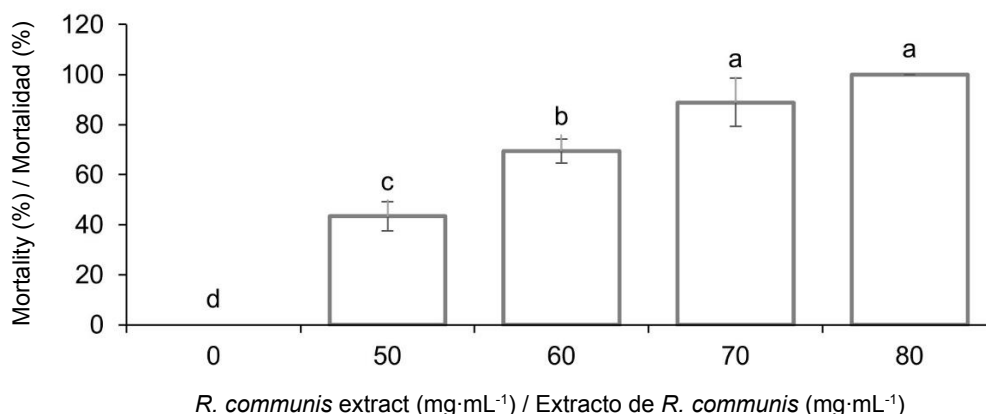


Figure 8. Percentage mortality of *Bactericera cockerelli* after 48 h of application of different concentrations of the methanolic extract of *Ricinus communis*. Different letters between concentrations indicate significant differences. (Tukey,  $p < 0.05$ ).

Figura 8. Porcentaje de mortalidad de *Bactericera cockerelli* después de 48 h de la aplicación de diferentes concentraciones del extracto metanólico de *Ricinus communis*. Letras diferentes entre concentraciones indican diferencias significativas (Tukey,  $p < 0.05$ ).

**Table 2. Insecticidal activity of plant extracts against fourth-stage nymphs of *Bemisia tabaci* and *Bactericera cockerelli* at 24 and 48 h after application, respectively.**

**Cuadro 2. Actividad insecticida de extractos vegetales contra ninfas del cuarto estadio de *Bemisia tabaci* y *Bactericera cockerelli* a las 24 y 48 h de aplicación, respectivamente.**

Plant extract / Extracto vegetal	<i>B. tabaci</i>		<i>B. cockerelli</i>	
	LC <sub>50</sub> (mg·mL <sup>-1</sup> ) / CL <sub>50</sub> (mg·mL <sup>-1</sup> )	Average number of nymphs evaluated per cm <sup>2</sup> / Promedio de ninfas evaluadas por cm <sup>2</sup>	LC <sub>50</sub> (mg·mL <sup>-1</sup> ) / CL <sub>50</sub> (mg·mL <sup>-1</sup> )	Average number of nymphs evaluated per cm <sup>2</sup> / Promedio de ninfas evaluadas por cm <sup>2</sup>
<i>Heliopsis longipes</i>	72.2	28.3	38.2	7.5
<i>Azadirachta indica</i>	80.9	22.7	53.0	9.8
<i>Ricinus communis</i>	28.3	20.7	53.9	9.1

LC<sub>50</sub>: mean lethal concentration.

CL<sub>50</sub>: concentración letal media.

to two compounds: 3-carboxy-4-methoxy-N-methyl-2-pyridone and ricinin (Abomughaid et al., 2024).

On the other hand, the *H. longipes* extract showed the greatest insecticidal effect on the fourth instar of *B. cockerelli* nymphs, with an LC<sub>50</sub> of 38.2 mg·mL<sup>-1</sup> (Table 2). In contrast, Beltrán-Beache et al. (2015) reported an LC<sub>50</sub> of 0.23 mg·mL<sup>-1</sup> when applying afinin isolated from the ethanolic extract of *H. longipes*, which explains the considerable difference with respect to the results of the present study. The alkamide afinin has shown paralyzing effects and toxicity against different insects (Hernández-Morales et al., 2015).

## Conclusions

Among the plant extracts tested, the ethanolic root extract of *H. longipes* and the methanolic seed extract of *R. communis* showed the greatest *in vitro* insecticidal effect against fourth-stage nymphs of *B. tabaci* and *B. cockerelli*, respectively. Phytochemical analyses suggest that this effect is mainly associated with the presence of afinin and ricinin identified in *H. longipes* and *R. communis*, respectively.

Further evaluations are suggested to confirm the insecticidal effect of afinin and ricinin on *B. tabaci* and *B. cockerelli* nymphs, as well as to explore their possible mechanisms of action.

## Acknowledgements

The authors would like to thank the *Instituto de Innovación, Ciencia y Emprendimiento para la Competitividad del Estado de Guanajuato* (IDEA-GTO) for the project funding, the *Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías* (CONAHCYT) for the postdoctoral fellowship and SNI incentives that allowed the completion of this work, and Dr. Iván Guadalupe Martínez Álvarez of the

28.3 mg·mL<sup>-1</sup> (Cuadro 2). Ali et al. (2020) reportaron una CL<sub>50</sub> de 2.26 mg·mL<sup>-1</sup> al usar un extracto de naturaleza lipídica, lo cual explica la diferencia observada. Asimismo, se han registrado tasas de mortalidad cercanas al 100 % al aplicar extractos de distintos órganos de *R. communis* en larvas de mosquitos como *C. quinquefasciatus*, *A. albopictus*, *A. stephens* y *A. gambiae* (Abomughaid et al., 2024). Esta actividad insecticida se ha atribuido principalmente a dos compuestos: 3-carboxi-4-metoxi-N-metil-2-piridona y ricinina (Abomughaid et al., 2024).

Por otro lado, el extracto de *H. longipes* presentó el mayor efecto insecticida en el cuarto estadio de ninfas de *B. cockerelli*, con una CL<sub>50</sub> de 38.2 mg·mL<sup>-1</sup> (Cuadro 2). En contraste, Beltrán-Beache et al. (2015) reportaron una CL<sub>50</sub> de 0.23 mg·mL<sup>-1</sup> al aplicar afinina aislada del extracto etanólico de *H. longipes*, lo que explica la diferencia considerable respecto a los resultados del presente estudio. La alcámidina afinina ha mostrado efectos paralizantes y toxicidad contra diferentes insectos (Hernández-Morales et al., 2015).

## Conclusiones

Entre los extractos vegetales evaluados, el extracto etanólico de raíz de *H. longipes* y el extracto metanólico de semillas de *R. communis* mostraron el mayor efecto insecticida *in vitro* contra ninfas del cuarto estadio de *B. tabaci* y *B. cockerelli*, respectivamente. Los análisis fitoquímicos sugieren que este efecto se asocia principalmente con la presencia de afinina y ricinina identificadas en *H. longipes* y *R. communis*, respectivamente.

Se sugiere realizar evaluaciones posteriores para confirmar el efecto insecticida de la afinina y la ricinina sobre ninfas de *B. tabaci* y *B. cockerelli*, así como explorar sus posibles mecanismos de acción.

Universidad Autónoma de Occidente for the morphological identification of the plant species.

### End of English version

## References / Referencias

- Abomughaid, M. M., Teibo, J. O., Akinfe, O. A., Adewolu, A. M., Teibo, T. K. A., Afifi, M., Al-Farga, A. M. H., Al-kuraishy, H. M., Al-Gareeb, A. I., Alexiou, A., Papadakis, M., & Batiha, G. E. (2024). A phytochemical and pharmacological review of *Ricinus communis* L. *Discover Applied Sciences*, 6(6), 315. <https://doi.org/10.1007/s42452-024-05964-5>
- Acree, F., Jacobson, M., & Haller, H. L. (1945). The structure of affinin, the insecticidal amide from *Erigeron affinis* DC. *The Journal of Organic Chemistry*, 10(5), 449-451. <https://doi.org/10.1021/jo01181a010>
- Addinsoft. (2018). XLSTAT, version 2018 [software]. <http://www.xlstat.com>
- Ahmed, R., Seth, V., Pasha, S. T., & Banerjee, B. D. (2000). Influence of dietary ginger (*Zingiber officinales* Rosc) on oxidative stress induced by malathion in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 38(5), 443-450. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(00\)00019-3](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(00)00019-3)
- Ainsworth, E. A., & Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. *Nature protocols*, 2(4), 875-877. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.102>
- Ali, S. A., Saleh, A. A. A., & Saleh, F. M. (2020). Bioefficacy of plant extracts and entomopathogenic fungi (*Trichoderma album*) in controlling *Myzus persicae* and *Bemisia tabaci*. *Plant Archives*, 20(1), 1450-1459. [https://www.plantarchives.org/SPECIAL%20ISSUE%2020-1/133\\_1450-1459\\_.pdf](https://www.plantarchives.org/SPECIAL%20ISSUE%2020-1/133_1450-1459_.pdf)
- Angulo-Escalante, M. A., Gardea-Béjar, A. A., Vélez-de la Rocha, R., García-Estrada, R. S., Carrillo-Fasio, A., Cháidez-Quiroz, C., & Partida-López, J. I. (2004). Contenido de azadiractina A en semillas de NIM (*Azadirachta indica* A. Juss) colectadas en Sinaloa, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27(4), 305-305. <https://doi.org/10.35196/rfm.2004.4.305>
- Barrios-Díaz, B., Arellano-Fuentes, M. E., Vázquez-Huerta, G., Barrios-Díaz, J. M., Berdeja-Arbeu, R., & Hernández-Tapia, M. D. R. (2016). Control alternativo de paratritioza (*Bactericera cockerelli* Sulc.) en chile serrano (*Capsicum annum* L.). *Entomología mexicana*, 3, 146-152. <https://www.acaentmex.org/entomologia/revista/2016/AGR/Em%20146-152.pdf>
- Beltrán-Beache, M., Cerna-Chávez, E., Delgado-Ortiz, J. C., & Ochoa-Fuentes, Y. M. (2015). Evaluación de la actividad insecticida de *Heliopsis longipes* (A. Gray) SF Blake sobre ninfas de *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae). *Investigación y Ciencia*, 23(66), 12-15. <https://doi.org/10.33064/iyucuaa2015663564>
- Bordin, T. A., Henning, L. L., Rodrigues, M. G., Oldoni, T. L. C., Carvalho, G. A., Potrich, M., & Lozano, E. R. (2023). Toxicity of the Hexane Fraction of Fruits and Seeds of *Ricinus communis* to Caterpillars of the *Spodoptera* Complex. *Agriculture*, 13(6), 1124. <https://doi.org/10.3390/agriculture13061124>

## Agradecimientos

Los autores agradecen al Instituto de Innovación, Ciencia y Emprendimiento para la Competitividad del Estado de Guanajuato (IDEA-GTO) por el proyecto financiado, al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca posdoctoral y estímulos del SNI que permitieron la realización del presente trabajo, y al Dr. Iván Guadalupe Martínez Álvarez de la Universidad Autónoma de Occidente por la identificación morfológica de las especies vegetales.

### Fin de la versión en español

- Cárdenas, P. D., Sonawane, P. D., Heinig, U., Bocobza, S. E., Burdman, S., & Aharoni, A. (2015). The bitter side of the nightshades: Genomics drives discovery in *Solanaceae* steroidal alkaloid metabolism. *Phytochemistry*, 113, 24-32. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.12.010>
- Cerna, E., Ochoa, Y., Aguirre, L. A., Flores, M., & Landeros, J. (2013). Determinación de la resistencia a insecticidas en cuatro poblaciones del psílido de la papa *Bactericera cockerelli* (Sulc.) (Hemiptera: Triozidae). *Phyton*, 82(1), 63-68. [https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1851-56572013000100009&lng=es](https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-56572013000100009&lng=es)
- Cruz-Estrada, A., Gamboa-Angulo, M., Borges-Argáez, R., & Ruiz-Sánchez, E. (2013). Insecticidal effects of plant extracts on immature whitefly *Bemisia tabaci* Genn. (Hemiptera: Aleyroidea). *Electronic Journal of Biotechnology*, 16(1), 6-6. <http://dx.doi.org/10.2225/vol16-issue1-fulltext-6>
- Czosnek, H., Ghanim, M., & Ghanim, M. (2002). The circulative pathway of begomoviruses in the whitefly vector *Bemisia tabaci* – insights from studies with Tomato yellow leaf curl virus. *Annals of Applied Biology*, 140(3), 215-231. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2002.tb00175.x>
- Dai, J., Yaylayan, V. A., Vijaya Raghavan, G. S., Paré, J. R., & Liu, Z. (2001). Multivariate calibration for the determination of total azadirachtin-related limonoids and simple terpenoids in neem extracts using vanillin assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3), 1169-1174. <https://doi.org/10.1021/jf001141n>
- Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J. M. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review Entomology*, 52(1), 81-106. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091440>
- Diabaté, D., Coulibaly, T., & Tano, Y. (2020). Control of *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aphididae) by some herbal extracts and pesticides on cabbage plants. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 8(4), 1524-1528. <https://www.entomoljournal.com/archives/2020/vol8issue4/PartX/8-4-162-662.pdf>
- Flores-Dávila, M., González-Villegas, R., Guerrero-Rodríguez, E., Mendoza-Villarreal, R., Cárdenas-Elizondo, A., Cerna-Chavez, E., & Aguirre-Urbe, L. (2011). Insecticidal effect of plant extracts on *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Psyllidae)

- nymphs. *Southwestern Entomologist*, 36(2), 137-144. <https://doi.org/10.3958/059.036.0203>
- Fonseca-Carreño, N. E., & Fonseca-Carreño, J. A. (2024). Resiliencia socioecológica en agro-ecosistemas agrícolas en Sumapaz Cundinamarca. *Ciencia en Desarrollo*, 15(1), 1-15. <https://doi.org/10.19053/01217488.v15.n1.2024.16652>
- Granados-Echegoyen, C., Pérez-Pacheco, R., Bautista-Martínez, N., Alonso-Hernández, N., Sánchez-García, J. A., Martínez-Tomas, S. H., & Sánchez-Mendoza, S. (2015). Insecticidal effect of botanical extracts on developmental stages of *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Trioziidae). *Southwestern Entomologist*, 40(1), 97-110. <https://doi.org/10.3958/059.040.0108>
- Hawkins, N. J., Bass, C., Dixon, A., & Neve, P. (2019). The evolutionary origins of pesticide resistance. *Biological Reviews*, 94(1), 135-155. <https://doi.org/10.1111/brv.12440>
- Hernández-Morales, A., Arvizu-Gómez, J. L., Carranza-Álvarez, C., Gómez-Luna, B. E., Alvarado-Sánchez, B., Ramírez-Chávez, E., & Molina-Torres, J. (2015). Larvicidal activity of affinin and its derived amides from *Heliopsis longipes* A. Gray Blake against *Anopheles albimanus* and *Aedes aegypti*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 18(2), 227-231. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2014.09.004>
- Jacobsen, S. K., Moraes, G. J., Sørensen, H., & Sigsgaard, L. (2019). Organic cropping practice decreases pest abundance and positively influences predator-prey interactions. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 272, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.11.004>
- Kaur, R., Choudhary, D., Bali, S., Bandral, S. S., Singh, V., Ahmad, M. A., Rani, N., Singh, T. G., & Chandrasekaran, B. (2024). Pesticides: An alarming detrimental to health and environment. *Science of The Total Environment*, 915, 170113. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170113>
- Khalil, N. S., Elseedi, H. R., Saleh, M. A., Salama, M. S., & Hamed, M. S. (2010). Biocidal activity of some castor extracts against the whitefly *Bemisia tabaci* (Genn) (Homoptera: Aleyrodidae). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, F. Toxicology & Pest Control*, 2(1), 31-38. <https://doi.org/10.21608/eajbsf.2010.17460>
- Kodandaram, M. H., Kumar, Y. B., Rai, A. B., & Singh, B. (2016). An overview of insecticides and acaricides with new chemistries for the management of sucking pests in vegetable crops. *Vegetable Science*, 43(1), 1-12. <https://doi.org/10.61180/>
- Kumar, R., Sharma, S., & Devi, L. (2018). Investigation of total phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity from extracts of *Azadirachta indica* of Bundelkhand Region. *International Journal of Life Sciences and Scientific Reserch*, 4, 1925-1933. <https://doi.org/10.21276/ijlssr.2018.4.4.10>
- Liu, D., & Trumble, J. T. (2004). Tomato psyllid behavioral responses to tomato plant lines and interactions of plant lines with insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 97(3), 1078-1085. <https://doi.org/10.1093/jee/97.3.1078>
- Liu, Z., Chen, W., Zhang, S., Chen, H., Su, H., Jing, T., & Yang, Y. (2022). Behavioral responses of *Bemisia tabaci* mediterranean cryptic species to three host plants and their volatiles. *Insects*, 13(8), 703. <https://doi.org/10.3390/insects13080703>
- Lopes-Baldin, E. L., Vendramim, J. D., & Lourenção, A. L. (2007). Interaction between resistant tomato genotypes and plant extracts on *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B. *Scientia Agricola*, 64, 476-481. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162007000500004>
- Mandal, S. (2010). Exploration of larvicidal and adult emergence inhibition activities of *Ricinus communis* seed extract against three potential mosquito vectors in Kolkata, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(8), 605-609. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(10\)60147-2](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(10)60147-2)
- Marciano-de Paula, J. A., Ferreira-Brito, L., Neves-Caetano, K. L., de Morais-Rodrigues, M. C., Borges, L. L., & Cardoso-da Conceição, E. (2016). Ultrasound-assisted extraction of azadirachtin from dried entire fruits of *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) and its determination by a validated HPLC-PDA method. *Talanta*, 149, 77-84. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.11.005>
- Molina-Torres, J., Salazar-Cabrera, C. J., Armenta-Salinas, C., & Ramírez-Chávez, E. (2004). Fungistatic and bacteriostatic activities of alkamides from *Heliopsis longipes* roots: affinin and reduced amides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15), 4700-4704. <https://doi.org/10.1021/jf034374y>
- Muhammad, A., & Kashere, M. A. (2020). Neem, *Azadirachta indica* L. (A. Juss): an eco-friendly botanical insecticide for managing farmers' insects pest problems-a review. *FUDMA Journal of Sciences*, 4(4), 484-491. <https://doi.org/10.33003/fjs-2020-0404-506>
- Navinraj, S., Boopathi, N. M., Balasubramani, V., Nakkeeran, S., Raghu, R., Gnanam, R., Saranya, N., & Santhanakrishnan, V. P. (2023). Molecular docking of nimbolide extracted from leaves of *Azadirachta indica* with protein targets to confirm the antifungal, antibacterial and insecticidal activity. *Indian Journal of Microbiology*, 63(4), 494-512. <https://doi.org/10.1007/s12088-023-01104-6>
- Nour, I. H., Alhadead, K., Ellmouni, F. Y., Badr, R., Saad, T. I., El-Banhawy, A., & Abdel Rahman, S. M. (2023). Morphological, anatomical and chemical characterization of *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae). *Agronomy*, 13(4), 985. <https://doi.org/10.3390/agronomy13040985>
- Olaniyan, O., Rodríguez-Gasol, N., Cayla, N., Michaud, E., & Wratten, S. D. (2020). *Bactericera cockerelli* (Sulc), a potential threat to China's potato industry. *Journal of Integrative Agriculture*, 19(2), 338-349. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(19\)62754-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(19)62754-1)
- Parola-Contreras, I., Guevara-González, R. G., Feregrino-Pérez, A. A., Reynoso-Camacho, R., Pérez-Ramírez, I. F., Ocampo-Velázquez, R. V., Rojas-Molina, A., Luna-Vazquez, F., & Tovar-Pérez, E. G. (2021). Phenolic compounds and antioxidant activity of methanolic extracts from leaves and flowers of chilcuague (*Heliopsis longipes*, Asteraceae). *Botanical Sciences*, 99(1), 149-160. <https://doi.org/10.17129/botsoci.2671>
- Pratyusha, S. (2022). Phenolic compounds in the plant development and defense: an overview. *Plant Stress Physiology - Perspectives in Agriculture*, 125-140. <https://doi.org/10.5772/intechopen.102873>
- Ramos, C. A., González, V. A., Soto, M., Engleman, E. M., & Rodríguez, D. A. (2004). Variación en contenido de azadiractina en frutos de margosa durante su desarrollo. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27(1), 81-85. [https://doi.org/10.35196/rfm.2004.Especial\\_1.81](https://doi.org/10.35196/rfm.2004.Especial_1.81)
- Saha-Tchinda, J. B., Mbitnkeu-Fetngna Tchebe, T., Tchoukoua, A., Cheumani-Yona, A. M., Fauconnier, M. L., Ndikontar-Kor, M., & Richel, A. (2021). Fatty acid profiles, antioxidant, and phenolic contents of oils extracted from *Acacia polyacantha*

- and *Azadirachta indica* (Neem) seeds using green solvents. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(2), e15115. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15115>
- Sani, I., Ismail, S. I., Abdullah, S., Jalinis, J., Jamian, S., & Saad, N. (2020). A review of the biology and control of whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), with special reference to biological control using entomopathogenic fungi. *Insects*, 11(9), 619. <https://doi.org/10.3390/insects11090619>
- Singh, A., & Kaur, J. (2016). Toxicity of leaf extracts of *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) against the third instar larvae of *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *American Journal of BioScience*, 4(3-1), 5-10. <https://doi.org/10.11648/j.ajbio.s.2016040301.12>
- Song, L., Wang, J., Gao, Q., Ma, X., Wang, Y., Zhang, Y., Xun, H., Yao, X., & Tang, F. (2018). Simultaneous determination of five azadirachtins in the seed and leaf extracts of *Azadirachta indica* by automated online solid-phase extraction coupled with LC-Q-TOF-MS. *Chemistry Central Journal*, 12, 1-9. <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0453-y>
- Sotelo-Leyva, C., Salinas-Sánchez, D. O., Peña-Chora, G., Trejo-Loyo, A. G., González-Cortázar, M., & Zamilpa, A. (2020). Insecticidal compounds in *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) to control *Melanaphis sacchari* Zehntner (Hemiptera: Aphididae). *Florida entomologist*, 103(1), 91-95. <https://doi.org/10.1653/024.103.0415>
- Stankovic, M. S. (2011). Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. *Kragujevac Journal of Science*, 33, 63-72. <https://www.pmf.kg.ac.rs/kjs/images/volumes/vol33/kjs33mstankovic63.pdf>
- Stashenko, E. E., Puertas, M. A., & Combariza, M. Y. (1996). Volatile secondary metabolites from *Spilanthes americana* obtained by simultaneous steam distillation-solvent extraction and supercritical fluid extraction. *Journal of Chromatography A*, 752(1-2), 223-232. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(96\)00480-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(96)00480-3)
- Stoytcheva, M. (2011). Pesticides in the modern world: effects of pesticides exposure. InTech. <https://doi.org/10.5772/943>
- Vázquez-Martínez, J., & Molina-Torres, J. (2024). Alkamide content and localization in *Heliopsis longipes* cypselae, obtained via fluorescence and double-multiphoton microscopy. *Molecules*, 29(23), 5651. <https://doi.org/10.3390/molecules29235651>
- Vereijssen, J., Smith, G. R., & Weintraub, P. G. (2018). *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae) and *Candidatus Liberibacter solanacearum* in potatoes in New Zealand: Biology, transmission, and implications for management. *Journal of Integrated Pest Management*, 9(1), 13. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmy007>
- Wafa, G., Amadou, D., & Larbi, K. M. (2014). Larvicidal activity, phytochemical composition, and antioxidant properties of different parts of five populations of *Ricinus communis* L. *Industrial Crops and Products*, 56, 43-51. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.02.036>
- Yohan, G., Sri, K. J. N., Bhavani, N. L. D., Devi, L., Kumar, P. L., Padmaja, V., & Sri, V. N. (2023). A Review on phytochemistry and pharmacological aspects on *Heliopsis longipes*. *Pakistan Heart Journal*, 56(3), 608-613. <https://www.pkheartjournal.com/index.php/journal/article/view/1669>
- Zahir, A. A., Rahuman, A. A., Bagavan, A., Geetha, K., Kamaraj, C., & Elango, G. (2012). Evaluation of medicinal plant extracts and isolated compound epicatechin from *Ricinus communis* against *Paramphistomum cervi*. *Parasitology Research*, 111, 1629-1635. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2589-8>